

Imuni odgovor šarana i patuljastog somića na neke biljne bolesti* (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758, *Ictalurus nebulosus* Le Sueur, 1819)

J. Grbelja, T. Vuković, N. Guzina

UVOD

U istraživanjima imunološkog odgovora slatkovodnih riba na biljne viruse kao nukleoproteine do danas su istražene vrste *Tinca tinca* Linnaeus, 1758. (Jurčić i sur. 1977) i *Carassius auratus gibelio* Bloch 1783. (Vuković i sur. 1979). Prema ovim autorima, navedene vrste su pokazale imunološku osjetljivost na neke biljne viruse.

U ovom radu istraživali smo imunološku reakciju dviju ribljih vrsta i to *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758. (šaran) i vrste *Ictalurus nebulosus* Le Sueur, 1819. (patuljasti ili američki somić) na dva biljna virusa. Cilj rada je bio da se ustanovi koliko je imunološki sistem spomenutih riba osjetljiv na nukleoproteine biljnih virusa.

MATERIJAL I METODE

Ribe vrste *Cyprinus carpio* i *Ictalurus nebulosus* ulovljene su u kanalima ribnjačarstva »Prnjavor« kod Prnjavora elektroagregatom. Za pokuse imunizacije ribe su lovljene tokom juna, oktobra i decembra 1978. godine. Ribe vrste *Cyprinus carpio* (šaran) bile su teške 405–550 gr, dok su primjerci *Ictalurus nebulosus* (patuljasti somić) težili 25–85 gr.

Primjerke vrste *Cyprinus carpio* (šaran) imunizirali smo s dva izometrična biljna virusa i to virusom šarenila velebilja (*belladonna mottle virus*; BMV) i virusom žutog mozaika postrne repe (*turnip yellow mosaic virus*; TYMV).

Jedinke vrste *Ictalurus nebulosus* (patuljasti somić) imunizirali smo TYMV-om.

Životinje su imunizirane čistim virusnim suspenzijama. Te suspenzije smo priredili na način opisan u radu Vuković i sur. (1979). Prilikom imunizacije ribe su primile po tri intramuskularne buster injekcije. Količinu antigena injiciranih pojedinim vrstama riba navodimo u poglavlju »Rezultati i diskusija«.

Imuniziranim ribama krv je vađena punkcijom iz rene vene. Priređeni imuni serumi pohranjeni su u hladnjak i čuvani na temperaturi od oko –15°C.

Određivanje titra antiseruma vršili smo pomoću metode dvostruke difuzije u agarskom gelu. Agar je bio 0,9% Bacto agar (Difco) otopljen u fiziološkoj otopini 0,85% NaCl. U agaru se nalazilo 0,25% natrium azida.

Ova istraživanja je financirala Republička zajednica za naučni rad SR Bosne i Hercegovine.

Dr. Julijana Grbelja, docent, Prirodno-matematički fakultet, Sarajevo. — Dr. Tihomir Vuković, profesor, Prirodno-matematički fakultet, Sarajevo. — Narcisa Guzina, asistent, Biološki institut Univerziteta, Sarajevo.

Dvostruki niz razrijeđenja antiseruma priredena su s 0,65% fiziološkom otopinom. Antigeni u serološkim pokusima bile su čiste virusne suspenzije TYMV-a i BMV-a. Čistoća virusnih suspenzija je provjerena elektronsko-mikroskopskom analizom virusnih preparata i spektrofotometrom. Ponekad smo koristili grubi sok virusno inficiranih biljaka.

REZULTATI I DISKUSIJA

Pokusi imunizacije vrste *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758.

Primjerke ove vrste riba imunizirali smo BMV-om i TYMV-om. BMV-om smo imunizirali dva šarana. Životinje su primile po tri buster injekcije intramuskularno. Pojedina injekcija je sadržavala 0,3 ml Freund-ovog nepotpunog adjuvansa, u kome je bilo resuspendirano 0,24 mg virusa. Prema tome, svaka životinja je primila 0,72 mg BMV-a. Injiciranje je vršeno u razmacima od dva dana. Drugi i jedanaesti dan nakon zadnje injekcije vadili smo životinjama krv. Istraživanje seruma imuniziranih životinja je pokazalo da su obje dale pozitivan imunološki odgovor na BMV.

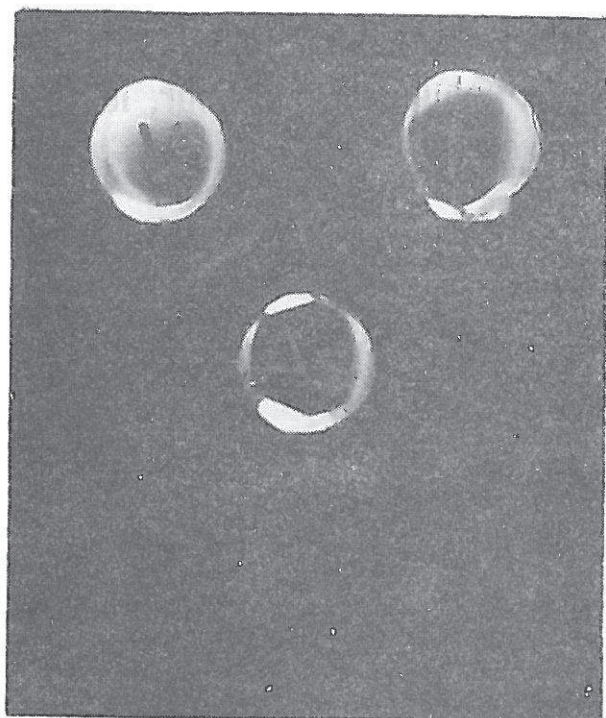
U serološkom pokusu izvedenom dvostrukom difuzijom a agarskom gelu nastale su jasne precipitacijske linije između bazena s priređenim imunitnim serumom i homolognim antigenom. Priređeni antiserum nije reagirao sa sokom zdravih biljaka (sl. 1).

Imuni serum dobiven drugi dan nakon zadnje injekcije imao je titar 1/4, a antiserum dobiven jedanaesti dan imao je titar 1/64.

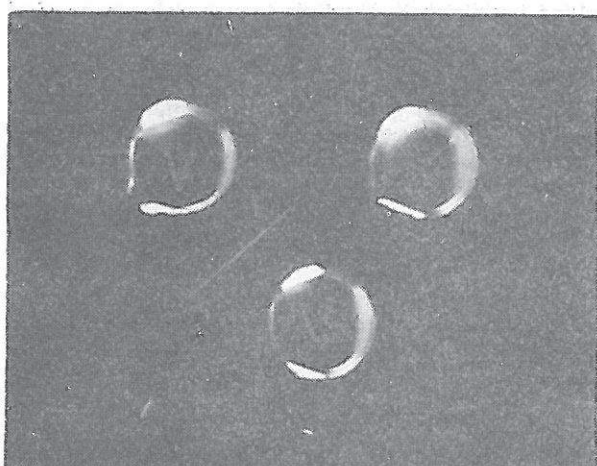
U drugom pokusu imunizirali smo šarana TYMV-om. Ribe su primile po tri injekcije u razmacima od sedam dana. Pojedina buster injekcija sadržavala je 0,5 ml Freund-ovog nepotpunog adjuvansa, u kome je resuspendirano 1,25 mg virusa. Krv smo vadili četiri puta i to: 8, 16, 24 i 32. dana nakon zadnje injekcije. Titar serum je bio nakon prvog vađenja krvi 1/16, a nakon toga titar je postepeno opadao te je serum izvađen 32. dana nakon posljednje injekcije imao titar 1/4. Prema tome, šaran je i na nukleoprotein TYMV-a dao imuni odgovor (sl. 2).

Pokusi imunizacije vrste *Ictalurus nebulosus* Le Sueur, 1819.

Četiri primjerka patuljastog somića imunizirali smo TYMV-om. Svaka životinja u ovom pokusu primila je po tri injekcije antigena u razmacima od sedam dana. Injekcije su sadržavale po 0,3 ml Freund-ovog nepotpunog adjuvansa pomiješanog s 0,75 mg TYMV-a. Sve imunizirane jedinke su dale pozitivan imunološki odgovor na TYMV (sl. 3).

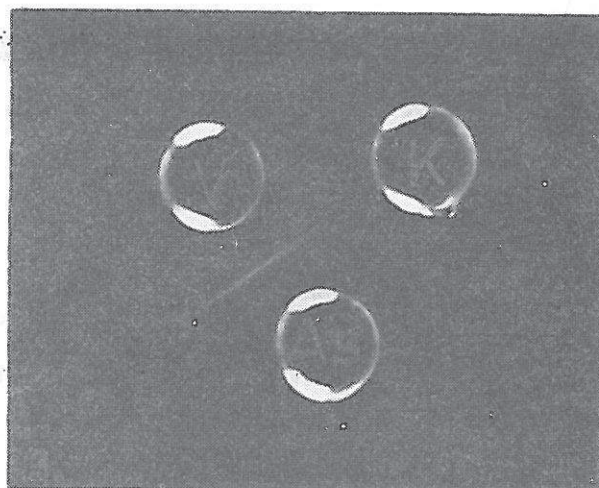


Sl. 1. Serološki pokus dvostruke difuzije u agarском gelu. V — BMV. K — kontrolni sok zdravih biljaka. As — serum protiv BMV-a dobiven imunizacijom šarana.



Sl. 2. Serološki pokus dvostruke difuzije u agarском gelu. V — TYMV. K — kontrolni sok zdravih biljaka. As — serum protiv TYMV-a priredjen imunizacijom šarana.

Titir dobivenog imunog seruma bio je 1/32. Maksimalni titir imunih seruma bio je postignut kod raznih jedinki u različito vrijeme. Kod jedne individue najviši



Sl. 3. Serološki pokus dvostruke difuzije u agarском gelu. V — TYMV. K — kontrolni sok zdravih biljaka. As — serum protiv TYMV-a priredjen imunizacijom patuljastog somića

titir dostignut je 21. dana nakon zadnje injekcije, dok je kod druge najviši titir dostignut nakon 96 dana.

Iz izloženih rezultata se vidi, da su jedinke obje ispitivane vrste imunološki osjetljive na elementarne čestice biljnih virusa, koji predstavljaju čiste nukleo-proteine.

ZAKLJUČAK

Vrsta *Cyprinus carpio* Linnaeus 1758. (šaran) dala je imunološki odgovor na dva izometrična biljna virusa, i to na virus šarenila velebilja (belladonna mottle virus; BMV) i virus žutog mozaika postrne repe (turnip yellow mosaic virus; TYMV).

Titir antiseruma iznosio je 1/64 pri imunizaciji BMV-om, a pri imunizaciji TYMV-om titir je iznosio 1/16.

Jedinke vrste *Ictalurus nebulosus* Le Sueur 1819. (patuljasti ili američki somić) imunizirane TYMV-om pokazale su isto tako pozitivnu imunološku reakciju. Titer priredjenog imunog seruma iznosio je 1/32.

LITERATURA

1. Juretić, N., T. Vuković, J. Grbelja, N. Guzina, 1977: Immunogenicity of turnip yellow mosaic virus in green, tench (*Tinca tinca*). *Naturwissenschaften* 64, 440.
2. Vuković, T., J. Grbelja, N. Guzina, N. Juretić, 1979: Imunološka reaktivnost babuške *Carassius auratus gibelio* (Bloch, 1783) na virus žutog mozaika postrne repe (turnip yellow mosaic virus) i virus šarenila velebilja (belladonna mottle virus). *Ichthyologia* 11, 1.